



AquaPhenol

DESCRIPTION

Le phénol bidistillé est saturé en eau bidistillée, et conditionné sous argon. Il est en phase liquide, prêt à être utilisé directement ou avec le tampon de votre choix. Il ne contient ni additif, ni antioxydant.

UTILISATION

Le phénol est saturé en eau. Pour de nombreuses applications la phase aqueuse doit être tamponnée et ramenée au pH désiré. Vous trouverez ci-dessous un protocole pour obtenir un phénol saturé en Tris HCl 10 mM, pH 7,5; EDTA 1 mM en utilisant vos propres solutions. Un protocole simplifié utilisant les solutions pHMaker livrées avec chaque flacon d'AquaPhenol est également disponible (voir fiche pHMaker solutions). Les 250 ml de phénol saturé en eau sont livrés dans un flacon de 500ml. Ainsi la neutralisation peut se dérouler en toute sécurité dans le même flacon.

(1) Ajouter 150 à 200 ml de Tris HCl 0,1M pH 8. Mélanger, laisser décanter, enlever la phase aqueuse (phase supérieure) à la trompe à vide.

(2) Répéter cette étape 1 à 2 fois, jusqu'à obtenir un pH de 7,5 à 8 dans la phase aqueuse.

(3) Ajouter 150 à 200 ml de Tris HCl 10 mM pH 8; EDTA 1 mM. Mélanger, laisser décanter, enlever la phase aqueuse (phase supérieure) à la trompe à vide.

(4) Répéter 2 fois cette étape.

La phase aqueuse tamponnée que vous utilisez doit être dégazée (pour éviter l'oxydation du phénol). Vous pouvez à votre convenance ajouter un antioxydant que vous choisirez selon votre application (par exemple: 8-hydroxyquinoléine).

CONSERVATION APRES NEUTRALISATION:

En fonction du débit d'utilisation de ce phénol saturé et tamponné, conservez-le à +4°C ou aliquotez-le dans des flacons opaques (à l'abri de la lumière) et conservez-le au congélateur à -20°C.

PH MAKER

Mode d'emploi

AquaPhenolTM est un phénol en phase liquide saturé en eau. Il a donc un pH acide qui convient en utilisation directe pour les extractions d'ARN.

Pour les extractions d'ADN, il est important d'utiliser un phénol saturé ayant un pH voisin de celui de la solution aqueuse d'ADN à extraire. Pour faciliter cette neutralisation, deux flacons pHMakerTM de 6 ml chacun sont livrés avec chaque flacon d'AquaPhenolTM. Ces deux solutions aqueuses pHMakerTM permettent de ramener le pH du phénol à 7,5 ou 8.

Comment obtenir du Phénol à pH 7,5 ?

Prendre 5 ml de solution pHMakerTM 7.5, compléter à 50 ml avec de l'eau bidistillée (dilution 10 x), rajouter les 50 ml directement au flacon d'AquaPhenolTM, bien mélanger et laisser décanter.

Après 1 à 5 mn les deux phases sont décantées. Le pH de la phase aqueuse (phase supérieure) peut être mesurée au pH mètre sur un aliquot dilué 2 fois dans l'eau bidistillée (ne pas utiliser de papier pH: la présence de phénol fausserait la mesure de pH). Le pH de la phase aqueuse est alors de 7,5 ±0,05.

Comment obtenir du Phénol à pH 8?

Prendre 5 ml de solution pHMakerTM 8, compléter à 50 ml avec de l'eau bidistillée (dilution 10 x), rajouter les 50 ml directement au flacon d'AquaPhenolTM, bien mélanger et laisser décanter.

Après 1 à 5 mn les deux phases sont décantées. Le pH de la phase aqueuse (phase supérieure) peut être mesurée au pH mètre sur un aliquot dilué 2 fois dans l'eau bidistillée (ne pas utiliser de papier pH: la présence de phénol fausserait la mesure de pH). Le pH de la phase aqueuse est alors de 8 ±0,1.

Importance de la concentration saline

AquaPhenolTM, phénol saturé en eau, contient environ 30% d'eau. Lors d'une extraction d'ADN, si la phase aqueuse saturante du phénol a une composition en sels différente de celle de la solution d'ADN, cette dernière aura sa composition modifiée par l'extraction. Par exemple, 1 ml de solution d'ADN à 50 mM NaCl, extraite par 2 x 1 ml de phénol saturé sans NaCl, aura après extraction une concentration saline de l'ordre de 30 mM NaCl.